Omaggio dell' Autore

ISTITUTO D' IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI CAGLIARI

Prof. O. CASAGRANDI

BG 142

SULLA PRESENZA DEL VIRUS VACCINICO

NEL

MIDOLLO OSSEO DEI CONIGLI

INOCULATI SULLA CUTE E SULLA CORNEA

CON VACCINO

(Comunicazione fatta nella Seduta del 18 Febbraio 1909
alla Società fra i Cultori delle Scienze Mediche e Naturali in Cagliari).

CAGLIARI
Prem. Stab. Tip. Ditta G. Dessì
1909.

Prof. **O. Casagrandi.** — *Sulla presenza del Virus vaccinico nel midollo osseo dei conigli inoculati sulla cute e sulla cornea con vaccino.*

La maggiore parte delle ricerche sulla presenza del virus vaccinico negli organi interni in seguito all'innesto dello stesso sulla cute o sulla cornea degli animali, sono riuscite negative in mano ai diversi osservatori. Solo in questi ultimi tempi alcuni hanno affermato l'esiste nzadel virus nel rene dei conigli in seguito all'innesto endocorneale del virus stesso (Siegel, Aldershoff e Broërs, Wasielewscki e Hauser) nonchè nel rene e nelle milza in seguito all'innesto endocorneale e cutaneo (Mulas). Anche io l'anno scorso alla Società di Patologia ebbi a comunicare di avere trovato il virus sia nel rene e nella milza di conigli inoculati sulla cute del dorso sia negli stessi organi di cani inoculati per via cutanea e per via gastrica con *vaccino filtrato attraverso alle Berkefeld W;* mentre precedenti ricerche eseguite nel 1906, non mi avevano permesso di trovare il virus in alcun organo di tali animali.

Avendo a mia disposizione conigli inoculati sulla cute e sulla cornea, con vaccino dell'Istituto sieroterapico milanese, li ho uccisi dopo 15 e 20 giorni e nel midollo osseo del femore ho ricercata la presenza del virus.

A tale scopo, persuaso che la positività della prova è legata alla tecnica cui si ricorre e particolarmente che è necessaria una accuratissima triturazione del materiale insieme a quarzo (in mortaio di porcellana e d'agata) e che bisogna evitare di concentrare il liquido, nel quale si sospende la poltiglia, a temperature superiori ai 25 gradi, ho, in questo caso, dopo triturato il materiale, diluita la poltiglia con acqua sterile, separata per centrifugazione la parte grossolana della poltiglia, concentrato il materiale sotto 25° e poi

ripreso il concentrato con un poco di glicerina e così l'ho innestato nell'occhio, di conigli sani.

L'innesto ho trovato utilissimo farlo non già dopo praticate scarificazioni o borse epiteliali, ma previe punture multiple della superficie corneale così come si fa per la ordinaria tatuazione delle macchie corneali. (1)

Oltre al materiale deposto sulla cornea così lesa, ho poi, fatto in modo che ne rimanesse per un certo tempo sempre del nuovo a contatto con la cornea stessa, introducendo, come fa il Negri, un batuffolo di ovatta sterile sotto le palpebre e cucendo la rima palpebrale. Solo a quando a quando, per mezzo di uno schizzetto, inoculavo attraverso la rima stessa nuovo materiale in modo che presso che nelle 12 ore veniva ad esaurire tutto il liquido che possedevo e che si riferiva a due midolli femorali pestati e triturati.

Trascorse 24 ore, ho tolto il batuffolo e trascorsene altre 70-72, uccisi i conigli, ho proceduto alla ricerca dei *Cythoryctes*. A tale scopo ho trovato un metodo praticissimo che non impone di dovere ricorrere a sezioni corneali e nello stesso tempo conduce a risultati assolutamente probativi.

Fisso l'occhio in bicromato di potassio al 3 % (p. 80) e Formalina (p. 20) per 24 ore; lavo in acqua corrente per 5 giorni, asciugo la superficie corneale delicatamente con carta bibula ed infine con una grossa lancetta, molto tagliente, raschio l'epitelio ed i brandelli li pongo in glicerina facendo da tre a cinque preparati per ogni occhio. Dilacero i brandelli nella gocciolina di glicerina, copro con un vetrino e chiudo i bordi della preparazione con opportuna lutatura. Quindi osservo prima a secco per scegliere i

---

(1) Questo metodo di innesto, ho, ora, quasi in tutte le mie ricerche sul virus vaccinico e su quello vaioloso, sostituito al metodo delle scarificazioni e delle borse epiteliali, giacchè esso permette di ottenere dei *preparati per impronta* ricchi di cellule epiteliali isolate o riunite a gruppi, in unico strato, nelle quali si possono colorare i *Cythoryctes* ed anche quelle particolari granulazioni su cui fermai l'attuazione fin dal 1906 e sulle quali prossimamente riferirò con ulteriori dettagli, avendole trovate anche nelle cellule corneali inoculate di virus vaioloso filtrato attraverso le Berkefeld W. Qui aggiungerò soltanto che la colorabilità in rosso ottenuta nel 1906 era dovuta sia all'usare io una miscela di Eosina ed Azzurro II in cui la Eosina era in quantità molto forte, sia all'azione prolungata del xilolo cui sottoponevo il materiale. Qualora quest'ultima si limiti al puro necessario per rendere possibile l'inclusione in balsamo, e si usi come colorante la miscela di Azzurro II (0,08 ‰) p. 1 ed Eosina A G (1 : 10.000 — 1 : 20.000) p. 10, i fini granuli restano colorati in bleu, attorno al nucleo, alla periferia del protoplasma etc. ed anche, mi pare, dentro allo stesso nucleo. Ciò tanto nell'infezione corneale vaccinica che in quella vaiolosa.

brandelli da studiare (preferendo l'8 e poi il 4 apocr. a secco e il comp. 12) e poi coll'immersione.

Si ottengono così dei bellissimi preparati a fresco coi nuclei bene distinti ed i *Cythorictes* di una chiarezza straordinaria sia per la forma che per l'aspetto, col loro tipico alone chiaro e con la nota posizione generalmente incavata in una parte del nucleo.

Concludendo sono riuscito a dimostrare che anche nel midollo osseo dei conigli inoculati sulla cute e sulla cornea con vaccino, si contiene il virus vaccinico, in quantochè triturando il midollo femorale, diluendo la poltiglia, concentrando il liquido centrifugato, sotto 25 gradi e poi ripigliando il concentrato con glicerina, il materiale determina la produzione di *Cythoryctes*, inoculato col metodo del Negri sulla cornea di conigli sani, precedentemente però lesa per mezzo di punture multiple a guisa di tatuaggio.